

先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム) 実施状況報告書(平成24年度)

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	新たな結核菌受容体を介する生体防御機構の解明と宿主の免疫賦活に向けた新戦略
研究機関・ 部局・職名	九州大学・生体防御医学研究所・教授
氏名	山崎 晶

1. 当該年度の研究目的

申請者は既に結核菌の受容体として、C型レクチン受容体 Mincle を見いだしている。Mincle は古くからアジュバントとして知られていた結核菌の主成分(トレハロースジミコール酸(TDM))を認識し、宿主の免疫応答に重要なはたらきを担う。Mincle は通常ほとんど発現していないが、TDM の刺激によって速やかに発現誘導されることから、リガンドによって受容体の発現が上昇するポジティブフィードバック機構と考えられる。ところが、上述のように Mincle は、感染前はほとんど発現していないため、どのようなメカニズムで Mincle が作られるようになるのか、そのきっかけとなる最初の結核菌センサーは不明であった。2つの可能性「わずかに発現する Mincle 自身」「新規 TDM 受容体」をの何れが正しいのかを明らかにするため、「Mincle 分子がない状態で Mincle 発現をモニターできる」MincleGFP/GFP ノックインマウスを用いて検証を試みた。

2. 研究の実施状況

MincleGFP/GFP マウスを用いて、TDM による Mincle の誘導に Mincle 分子が必要か否か検討した。MincleGFP/GFP マウスでは、Mincle mRNA は発現しないが、Mincle 発現誘導を GFP でモニターできることを、LPS を用いて確認した。このマウスに TDM を投与したところ、GFP を発現した細胞が確認できたことから、新規 TDM 受容体の存在が明らかとなった。この現象は、Mincle 分子を持たない MincleGFP/GFP マウスにもかかわらず、抗 Mincle ブロッキング抗体(1B6)で消失したため、この抗体に交差反応を示す分子が候補受容体であろうと考えられた。申請者らはこの抗体のエピトープ(VEGQW)を既に同定しており、このエピトープ配列を持つ分子を *in silico* で全マウスタンパクの中から探索したところ、4分子が該当することが判明した。これらの中で唯一ミエロイド系に発現する分子として、C型レクチン受容体 MCL に着目した。免疫沈降法を用いた実験により MCL が FcR γ と会合していることを見出した。また、MCL と FcR γ を発現するレポーター細胞を樹立したところ、TDM 刺激で強く活性化されることが判明したことから、MCL は TDM を認識することが判明した。

MCL 欠損マウスを作成してその樹状細胞を解析したところ、TDM による Mincle 誘導が著しく低下していたことから、MCL が TDM を認識して Mincle を誘導する受容体であることが判明した。TDM 投与による炎症性サイトカインの産生や肺の肉芽腫形成は、MCL 欠損マウスで減弱した。これらの反応は、MCL 欠損マウスに Mincle Tg マウスを交配させることで回復したことから、MCL 欠損マウスでの TDM に対する反応性の低下は Mincle の発現低下に由来することを示している。以上より、MCL は結核菌糖脂質のアジュバント活性を担う重要な受容体であることが明らかとなった(Miyake, et al. *Immunity*, in press)。また、Mincle の新たなリガンド同定も実施し、自然界で知られていない新しい構造のリガンドを同定することができた(Ishikawa, et al. *Cell Host Microbe*, 2013)。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文</p> <p>計5件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計2件</p> <p>Behler F, Steinwede K, Balboa L, Ueberberg B, Maus R, Kirchhof G, Yamasaki S, Welte T, Maus UA. Role of Mincle in alveolar macrophage-dependent innate immunity against mycobacterial infections in mice. <i>J. Immunol.</i> 189, 3121-3129, 2012.</p> <p>Miyake Y, and Yamasaki S. Sensing necrotic cells. <i>Adv. Exp. Med. Biol.</i> 738, 144-152, 2012.</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計0件</p> <p>(未掲載) 計3件</p> <p>Shenderov K, Barber DL, Mayer-Barber KD, Gurcha SS, Jankovic D, Feng CG, Oland S, Hieny S, Caspar P, Yamasaki S, Lin X, Ting JP, Trinchieri G, Besra GS, Cerundolo V, Sher A. Cord Factor and Peptidoglycan Recapitulate the Th17-Promoting Adjuvant Activity of Mycobacteria through Mincle/CARD9 Signaling and the Inflammasome. <i>J Immunol.</i> 2013 in press.</p> <p>Miyake Y, Toyonaga K, Mori D, Kakuta S, Hoshino Y, Oyamada A, Yamada H, Ono K, Suyama M, Iwakura Y, Yoshikai Y, Yamasaki S. C-type lectin MCL is an FcR γ-coupled receptor that mediates the adjuvanticity of mycobacterial cord factor. <i>Immunity.</i> 2013 in press.</p> <p>Ishikawa T, Itoh F, Yoshida S, Saijo S, Matsuzawa T, Gono T, Saito T, Okawa Y, Shibata N, Miyamoto T, Yamasaki S. Identification of distinct ligands for the C-type lectin receptors Mincle and Dectin-2 in the pathogenic fungus <i>Malassezia</i>. <i>Cell Host Microbe</i> 2013 in press.</p>
<p>会議発表</p> <p>計13件</p>	<p>専門家向け 計12件</p> <p>Medical Science Forum Tokyo 2012 on Immunity for the Control of Autoimmune Diseases (ICAD) Sensing "danger" through C-type lectin receptors Sho Yamasaki 東京 2012.4.17-18</p> <p>RCAI-JSI International Symposium on Immunology 2012 Immune responses through C-type lectin receptors Sho Yamasaki 横浜 2012.6.28-29</p> <p>第14回免疫サマースクール 2012 免疫応答のフロントライン 山崎 晶 栃木 2012.7.23-26</p> <p>International Symposium on Etiology and Therapeutics of Autoimmune Diseases Immune responses through C-type lectin receptors for endo/exogenous adjuvants Sho Yamasaki 福岡 2012.12.2-4</p> <p>第41回日本免疫学会学術集会</p>

様式19 別紙1

	<p>Identification of novel TDM receptor that triggers Mincle induction Miyake Yasunobu, Toyonaga Kenji, Mori Daiki, Kakuta Shigeru, Iwakura Yoichiro, Yamasaki Sho 神戸 2012.12.5-7</p> <p>第 41 回日本免疫学会学術集会 Mori Daiki, Miyake yasunobu, Toyonaga Kenji, Kakuta Shigeru, Iwakura Yoichiro, Yamasaki Sho TDM promotes acquired immune responses through C-type lectin receptor Mincle and DC-Clec 神戸 2012.12.5-7</p> <p>第 41 回日本免疫学会学術集会 Toyonaga Kenji, Miyake Yasunobu, Mori Daiki, Yamasaki Sho Characterization of DC-Clec as an activation receptor for TDM 神戸 2012.12.5-7</p> <p>第 41 回日本免疫学会学術集会 Yonekawa Akiko , Saijo Shinobu, Ishikawa Eri, Inoue Hiromasa, Yamasaki Sho Dectin-2 is an essential receptor for mycobacterial lipoglycan 神戸 2012.12.5-7</p> <p>第 41 回日本免疫学会学術集会 Nagata Masahiro, Shimamura Michio, Ishikawa Eri, Nagai Shigenori, Koyasu Shigeo, Yamasaki Sho Recognition of amphiphilic acylglucoside derived from Helicobacter pylori by C-type lectin receptor Mincle 神戸 2012.12.5-7</p> <p>BioLegend ナイトセミナー C型レクチンによるアジュバント認識と免疫応答 山崎 晶 神戸 2012.12.4</p> <p>第 85 回日本生化学会大会 Immune response against damaged-self through C-type lectin receptors Sho Yamasaki 福岡 2012.12.14-16</p> <p>第2回御茶ノ水動脈硬化フォーラム Immune responses through C-type lectin receptors for adjuvants 山崎 晶 東京 2013.2.23</p> <p>一般向け 計1件</p> <p>サイエンスカフェ・オンザエッジ いちばん新しい免疫の話。 山崎 晶 福岡 2012.11.10</p>
<p>図 書 計1件</p>	<p>山崎晶, 永田雅大 2013 医学書院 レクチンによる認識 標準免疫, 79-77(総頁数 459)</p>
<p>産業財産権 出願・取得状 況 計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	

様式19 別紙1

国民との科学・技術対話の実施状況	サイエンスカフェ・オンザエッジ いちばん新しい免疫の話。 山崎 晶 福岡 2012.11.10 一般市民向け 50人
新聞・一般雑誌等掲載 計0件	
その他	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成24年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	128,000,000	75,800,000	26,100,000	26,100,000	0
間接経費	38,400,000	22,740,000	7,830,000	7,830,000	0
合計	166,400,000	98,540,000	33,930,000	33,930,000	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	31,406,016	26,100,000	0	57,506,016	49,410,305	8,095,711	0
間接経費	9,421,806	7,830,000	0	17,251,806	11,681,428	5,570,378	0
合計	40,827,822	33,930,000	0	74,757,822	61,091,733	13,666,089	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	35,722,269	実験器具、実験動物等
旅費	762,300	学会参加、研究打合せ
謝金・人件費等	5,722,853	実験補助員等
その他	7,202,883	実験動物管理、外部委託等
直接経費計	49,410,305	
間接経費計	11,681,428	
合計	61,091,733	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
多本架冷却遠心機	株式会社トミー精工	1	746,025	746,025	2013/3/27	九州大学
				0		
				0		